

纤枝金丝桃化学成分研究

张涵, 邓憬童, 彭宇, 韩庆迪, 周献东, 杨新洲*

(中南民族大学 药学院, 武汉 430074)

摘要: 为了探究滇产植物纤枝金丝桃的物质基础、寻找活性化合物, 该文用80%乙醇对纤枝金丝桃地上部分浸渍提取, 应用HP-20大孔吸附树脂、硅胶、葡聚糖凝胶、半制备高效液相等色谱技术对纤枝金丝桃的化学成分进行分离纯化, 根据波谱数据鉴定化合物的结构。结果表明: 从纤枝金丝桃中分离得到15个化合物, 分别鉴定为attenuatumione G (1)、uralodin B (2)、chipericum C (3)、2,5-二羟基-1-甲氧基氧杂蒽酮 (4)、1,7-二羟基氧杂蒽酮 (5)、1,7-二羟基-4-甲氧基氧杂蒽酮 (6)、槲皮苷 (7)、芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷 (8)、芹菜素-7-O- β -D-(6"-O-乙酰基)-葡萄糖苷 (9)、木犀草素 (10)、槲皮素 (11)、白桦脂酸 (12)、白桦脂酸甲酯 (13)、白桦脂酮酸 (14)、 β -谷甾醇 (15)。化合物1-14首次从该植物中分离得到。采用MTT法对化合物1-14进行体外抗乳腺癌活性测试, 结果仅显示化合物3、6、13对2种乳腺癌细胞株MCF-7和MDA-MB-231有一定的抑制作用, 它们的IC₅₀值分别为48.6~123.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。该研究结果对综合开发利用纤枝金丝桃资源具有理论和应用意义。

关键词: 金丝桃属, 纤枝金丝桃, 化学成分, 多环多异戊烯基间苯三酚, 细胞毒活性

中图分类号: Q946; R284.1 **文献标识码:** A

Chemical components of *Hypericum lagarocladum*

ZHANG Han, DENG Jingtong, PENG Yu, HAN Qingdi, ZHOU Xiandong, YANG Xinzhou*

(School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China)

Abstract: The purpose of this paper was to study the material basis and the bioactive chemical components of *Hypericum lagarocladum*. The aerial part of this species was extracted with 80% ethanol, and then the crude extract was isolated and purified by HP-20 macroporous adsorption resin column chromatography (CC), silica gel CC, Sephadex LH-20 CC and semi-preparative HPLC. The structures of isolated compounds were deduced by the spectroscopic data, as well as comparison with the previous literature data. Fifteen compounds were purified from *H. lagarocladum*. They were identified as attenuatumione G (1), uralodin B (2), chipericum C (3), 2,5-dihydroxy-1-methoxyxanthone(4), 1,7-dihydroxyxanthone(5), 1,7-dihydroxy-4-methoxyxanthone (6), quercitrin (7), apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside (8), apigenin-7-O- β -D-(6"-O-acetyl)-glucopyranoside (9), luteolin (10), quercetin (11), betulinic acid (12), betulinic acid methyl ester (13), betulonic acid (14), and β -sitosterol (15). Compounds 1-14 are isolated from *H. lagarocladum* for the first time. In vitro cytotoxic activity of compounds 1-14 were evaluated using MTT method against MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines. And only compounds 3, 6 and 13 showed weak cytotoxic activity with IC₅₀ values ranging from 48.6 to 123.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. These

基金项目: 国家自然科学基金 (81774000); 中南民族大学大学生创新创业训练计划项目 (GCX2134)

[Supported by National Natural Science Foundation of China (81774000); Undergraduate Training Program for Innovation and Entrepreneurship of South-Central Minzu University (GCX2134)].

第一作者: 张涵 (2001-), 在读本科生, 从事民族药药效物质基础研究, (E-mail) cece_koko@163.com.

***通信作者:** 杨新洲, 博士, 教授, 从事中药和民族药药效物质基础、药理活性及作用机制研究, (E-mail) xzyang@mail.scuec.edu.cn.

research results provide a scientific theoretical basis of *H. lagarocladum* for its comprehensive development and utilization.

Key words: *Hypericum*, *Hypericum lagarocladum*, chemical components, PPAPs, cytotoxicity

藤黄科(Clusiaceae)金丝桃属(*Hypericum*)植物,大约460种,中国有64种(33特有种)。该属在中国分布广泛,西南部最为丰富,而在新疆最为罕见(Li & Norman, 2007)。金丝桃属植物在国内外民间具有悠久的药用历史,如贯叶金丝桃(*Hypericum perforatum*)具有疏肝解郁、清热利湿、消肿通乳功效,用于肝气郁结、情志不畅、心胸郁闷、关节肿痛、乳痛、乳少等方面的治疗(中国药典委员会, 2020)。该属化学成分的结构类型主要包括间苯三酚类、黄酮类、二萜酮类、三萜类、香豆素类、甾醇类等,并具有广泛的药理活性,如具有抗肿瘤作用的间苯三酚类化合物Hyperjapones A-B, D(Yang et al., 2016),具有显著抑制人乳腺癌细胞(MCF-7)和人肝癌细胞(HepG2)活性的氧杂蒽酮类化合物neobractatin(殷慧君, 2020)。

纤枝金丝桃(*Hypericum lagarocladum*)为藤黄科金丝桃属植物,灌木,高0.4~1.5 m,主产于湖南西部、四川西部、贵州南部、云南中部至西部,生于山谷或山坡路旁、沟边、灌丛中,海拔1 500~2 700 m(Li & Norman, 2007)。目前,关于纤枝金丝桃的化学成分和活性研究报道甚少,基于已从金丝桃属其他植物中分离得到特异性分布于该属植物的骨架新颖、活性广泛的多环多异戊烯基间苯三酚类成分(polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols, PPAPs),及植物中的次生代谢产物具有一定种属特异性,为了阐明该植物的物质基础和获得PPAPs类活性化合物,我们对云南产的纤枝金丝桃地上部分进行了系统的化学成分研究,从该植物的80%乙醇浸提物中分离得到了15个化合物(图1),分别鉴定为attenuatumione G (1)、uralodin B (2)、chipericum C (3)、2,5-二羟基-1-甲氧基氧杂蒽酮 (4)、1,7-二羟基氧杂蒽酮 (5)、1,7-二羟基-4-甲氧基氧杂蒽酮 (6)、槲皮苷 (7)、芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷 (8)、芹菜素-7-O- β -D-(6"-O-乙酰基)-葡萄糖苷 (9)、木犀草素 (10)、槲皮素 (11)、白桦脂酸 (12)、白桦脂酸甲酯 (13)、白桦脂酮酸 (14)、 β -谷甾醇 (15)。采用MTT法对首次从该植物中分离得到的化合物1~14进行体外抗乳腺癌活性测试,结果仅显示化合物3、6、13对2种乳腺癌细胞株MCF-7和MDA-MB-231有一定的抑制作用,它们的IC₅₀值分别为48.6~123.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

Finnigan MAT-95 型质谱仪, Q-TOF Micro LC-MS-MS 质谱仪, Bruker DRX-600 型核磁共振仪(Bruker, 德国), Waters 制备型高效液相色谱仪(Waters, 美国), COSMOSIL C18 250 mm \times 10 mm, 5 μm 半制备柱和 COSMOSIL 5PFP 250 mm \times 10 mm, 5 μm 半制备柱(COSMOSIL Ltd., 日本), HP-20 大孔吸附树脂(日本三菱公司), 薄层层析硅胶板 GF₂₅₄ 200~300, 300~400 目(烟台江友硅胶开发有限公司), Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶(Amersham Biosciences Ltd., 美国), 色谱级甲醇和色谱级乙腈(TEDIA Ltd., 美国)。

1.2 植物材料

纤枝金丝桃(*Hypericum lagarocladum*)于2019年6月采集于云南省昆明市梁王山(102°52'45" E, 24°43'57" N), 由中南民族大学万定荣教授鉴定, 标本(SC0869)保存于中南民族大学药学院植物标本库。

1.3 实验方法

1.3.1 提取和萃取 纤枝金丝桃干燥地上部分 25.5 kg, 粉碎后用 80%的乙醇水重复提取 4 次(室温浸泡, 每次 20 L, 每次 3 d), 合并提取液, 减压蒸馏至无醇味, 得浸膏 1.76 kg。将浸膏分散于 5 倍体积热水, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 得到石油醚部份 142 g、乙酸乙酯部份 353 g、正丁醇部份 693 g。合并石油醚部份和乙酸乙酯部份, 用大孔树脂柱层

析, 以水-乙醇梯度洗脱(20%-30%-40%-50%-60%-70%-80%-90%-95%, v/v), 硅胶薄层色谱检测, 合并得 11 个组分 A~K。

1.3.2 分离和纯化 组分 C 经凝胶柱层析, 以甲醇(加入 0.1%甲酸)洗脱, 合并得 9 个组分 (C_1 ~ C_9)。组分 C_2 经半制备高效液相色谱, 分离得到化合物 **3** (3.1 mg) (乙腈-水, v/v, 30:70→39:61, 22 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)和化合物 **7** (6.2 mg) (乙腈-水, v/v, 20:80→45:55, 18 min, 流动相含有 0.1%的甲酸); C_3 组分经半制备高效液相色谱, 分离得到化合物 **2** (9.5 mg) (乙腈-水, v/v, 46:54→50:50, 24 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)和化合物 **4** (7.2 mg) (乙腈-水, 体积比 70:30→65:35, 16 min, 流动相含有 0.1%的甲酸); C_4 组分经半制备高效液相色谱, 分离得到化合物 **10** (9.2 mg) (乙腈-水, v/v, 30:70→70:30, 18 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)和化合物 **11** (7.2 mg) (乙腈-水, v/v, 25:75→60:40, 18 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)。组分 D 用凝胶柱层析, 硅胶薄层色谱检测, 得到 10 个组分 D_1 ~ D_{10} 。组分 D_1 经半制备高效液相色谱分离得到化合物 **1** (10.4 mg) (乙腈-水, v/v, 60:40→80:20, 25 min, 流动相含有 0.1%的甲酸), 组分 D_2 经高效液相色谱分离得到化合物 **8** (6.2 mg) (乙腈-水, v/v, 10:90→60:40, 17 min, 流动相含有 0.1%的甲酸), 组分 D_6 经高效液相色谱分离得到化合物 **5** (4.6 mg) (乙腈-水, v/v, 15:85→65:35, 15 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)。组分 E 经硅胶柱层析二氯甲烷-甲醇等梯度洗脱(8:1, v/v), 硅胶薄层色谱检测, 合并为 E_1 ~ E_5 组分。 E_1 组分经凝胶柱层析, 硅胶薄层色谱检测, 分为 E_{1-1} ~ E_{1-3} 组分, E_{1-1} 经半制备高效液相色谱, 得到化合物 **14** (10.5 mg) (乙腈-水, v/v, 10:90→80:20, 14 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)和化合物 **15** (9.4 mg) (乙腈-水, v/v, 20:80→75:25, 18 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)。组分 G 经硅胶柱层析石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱(1:0-0:1, v/v), 硅胶薄层色谱检测, 合并分为 G_1 ~ G_6 组份。 G_3 经凝胶柱层析, 硅胶薄层色谱检测, 合并为 G_{3-1} ~ G_{3-5} 组分, G_{3-1} 组分经半制备高效液相色谱得到化合物 **6** (5.8 mg) (乙腈-水, v/v, 15:85→55:45, 19 min, 流动相含有 0.1%的甲酸), 组分 G_{3-3} 经半制备高效液相色谱得到化合物 **9** (3.1 mg) (乙腈-水, v/v, 10:90→76:24, 21 min, 流动相含有 0.1%的甲酸), 化合物 **12** (10.7 mg) (乙腈-水, v/v, 10:90→76:24, 23 min, 流动相含有 0.1%的甲酸), 化合物 **13** (7.2 mg) (乙腈-水, v/v, 10:90→70:30, 26 min, 流动相含有 0.1%的甲酸)。

1.3.3 抗乳腺癌活性测试 人乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-231 均从美国模式培养物集存库购买(American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA), 并培养在培养基比例为 90% 的 DMEM 培养基(高糖型), 10%的胎牛血清(FBS)和 1%的双抗溶液(青霉素和链霉素)中, 在恒温 37 °C、5%CO₂ 的培养箱内培养。根据生长情况传代或更换培养基。取生长好的细胞株以每孔 100 μ L(密度为 1×10^4 ~ 5×10^4)接种在 96 孔板中, 于 37 °C、5%CO₂ 的培养箱内培养。运用 MTT 法测试细胞活力和细胞毒性(徐婵等, 2020)。化合物样品溶解在 DMSO 溶液中, 配制浓度为 50 mg mL⁻¹ 的母液。用 DMEM 将母液稀释至待测样品的最终浓度为 10、20、40、60、80、100 μ g·mL⁻¹(二甲基亚砜浓度低于 1%)。待细胞在 96 孔板长满后, 吸弃培养液。每孔加入 200 μ L 的不同浓度的待测化合物; 对于每个浓度设置 5 孔, 并设置试验样品的对照和未添加样品、细胞的空白对照。分别培养 12、24 和 48 h 后, 吸弃培养液, 向每个孔中加入 DMEM 制备的 MTT 溶液 100 μ L (5 mg mL⁻¹), 孵育 0.5 h, 所产生的蓝紫色甲臌结晶用 150 μ L 的 DMSO 溶解, 于 562 nm 下测定每孔 OD 值, 生长抑制率= [1-(实验组 OD 值-空白组 OD 值)/(对照组 OD 值-空白组 OD 值)] \times 100%。按文献计算半数抑制浓度(IC₅₀)。

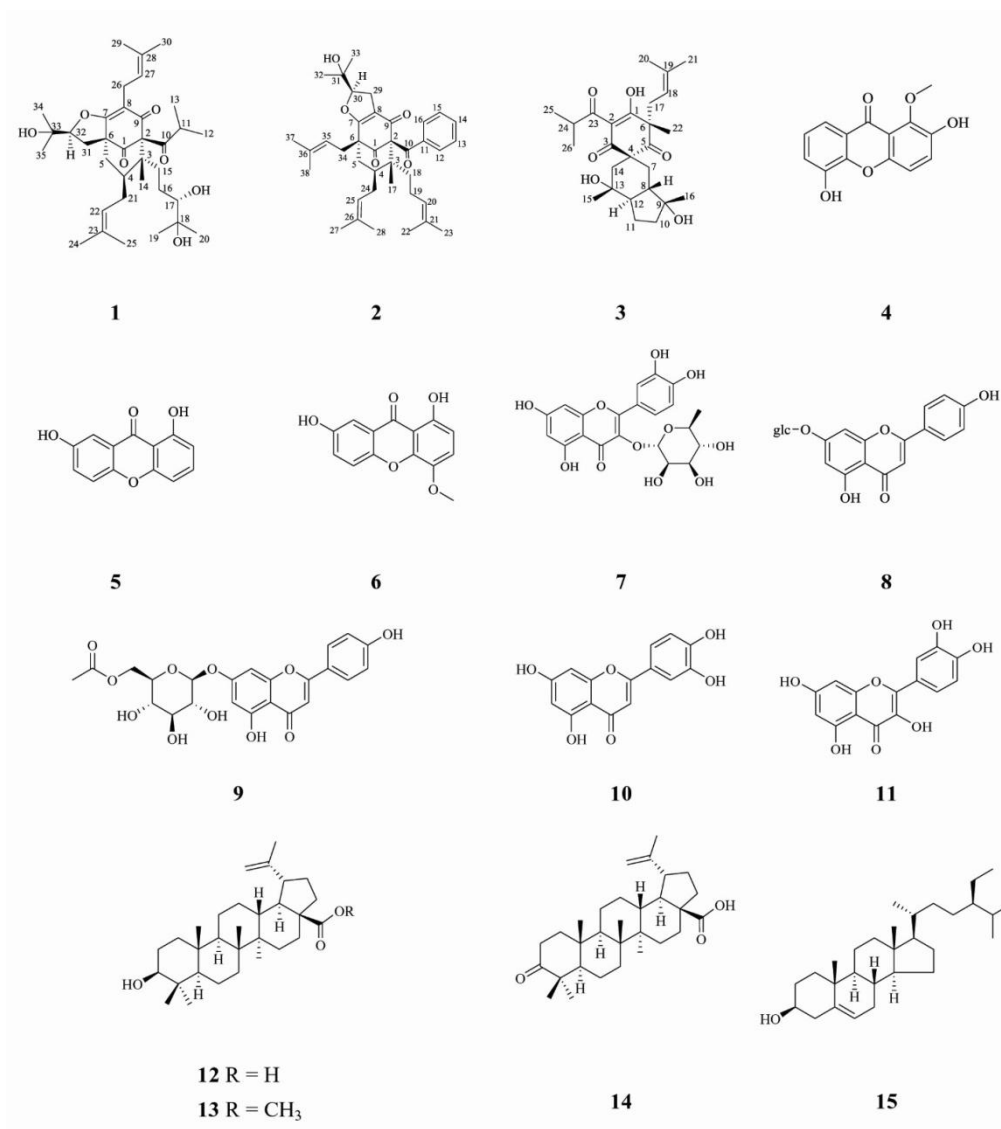


图 1 化合物 1-15 的结构式

Fig. 1 Structures of compounds 1-15

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

化合物 **1** 黄色油状。ESI-MS: m/z 587 $[M+H]^+$, C₃₅H₅₅O₇; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.06 (1H, t, J = 7.1 Hz, H-27), 4.94 (1H, m, H-22), 4.57 (1H, dd, J = 10.9, 5.6 Hz, H-32), 3.27 (1H, d, J = 9.7 Hz, H-17), 3.15 (1H, dd, J = 14.0, 6.8 Hz, H-26 α), 3.04 (1H, dd, J = 14.0, 6.8 Hz, H-26 β), 2.67 (1H, dd, J = 12.8, 10.5 Hz, H-31 α), 2.15 (1H, m, H-21 α), 2.09 (1H, d, J = 12.3 Hz, H-15 α), 2.05 (1H, dd, J = 13.2, 4.3 Hz, H-5 α), 1.96 (1H, t, J = 6.4 Hz, H-11), 1.93 (1H, m, H-15 β), 1.78 (2H, dd, J = 12.9, 5.3 Hz, H-21 β , 31 β), 1.71 (6H, s, H-24, 30), 1.67 (1H, m, H-4), 1.66 (3H, s, H-29), 1.61 (1H, m, H-16 α), 1.57 (3H, s, H-25), 1.51 (2H, t, J = 13.4 Hz, H-5 β , 16 β), 1.38 (3H, s, H-34), 1.23 (3H, s, H-35), 1.18 (3H, s, H-19), 1.14 (3H, s, H-20), 1.09 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-13), 1.07 (3H, s, H-14), 1.01 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-12). ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 209.7 (C-10), 204.4 (C-1), 193.8 (C-9), 174.0 (C-7), 133.9 (C-23), 132.8 (C-28), 122.1 (C-22), 121.1 (C-27), 117.0 (C-8), 90.5 (C-32), 82.9 (C-2), 78.7 (C-17), 73.1 (C-18), 71.0 (C-33), 59.7 (C-6), 48.4 (C-3),

42.4 (C-11), 41.9 (C-4), 37.9 (C-5), 33.1 (C-15), 30.3 (C-31), 27.5 (C-21), 27.4 (C-16), 27.1 (C-34), 26.4 (C-19), 26.1 (C-24), 25.8 (C-29), 24.2 (C-35), 23.6 (C-20), 22.3 (C-26), 21.6 (C-12), 20.6 (C-13), 18.2 (C-25), 18.0 (C-30), 15.1 (C-14)。化合物 **1** 的 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱中共显示了 35 个碳信号, 通过特征碳信号 δ 209.7 (C-10), 204.4 (C-1), 193.8 (C-9), 174.0 (C-7), 117.0 (C-8), 82.9 (C-2), 59.7 (C-6), 48.4 (C-3), 41.9 (C-4), 37.9 (C-5), 可以推断该化合物是[3.3.1]型多环多异戊烯基间苯三酚衍生物。结合 ^1H -NMR, 显示化合物 **1** 具有一个异丁酰基, 两个异戊烯基, 一个 2-甲基-2,3-二羟基丁基和一个四氢呋喃环片段, 其波谱数据与 Zhou 等 (2016) 的报道基本一致, 故鉴定化合物 **1** 为 attenuatumione G。

化合物 **2** 黄色油状。ESI-MS: m/z 587 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{O}_5$; ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.51 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-12, 16), 7.38 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-14), 7.25 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-13, 15), 5.06 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-35), 5.02 (2H, m, H-20, 25), 4.87 (1H, dd, $J = 10.3, 7.6$ Hz, H-30), 3.02 (1H, dd, $J = 15.0, 10.4$ Hz, H-29 α), 2.98 (1H, dd, $J = 15.0, 7.7$ Hz, H-29 β), 2.54 (2H, m, H-34), 2.18 (2H, m, H-19 β , 24 β), 2.07 (1H, m, H-5 β), 2.05 (1H, m, H-18 β), 2.02 (1H, m, H-19 α), 2.00 (1H, m, H-4), 1.96 (1H, m, H-24 α), 1.82 (1H, m, H-18 α), 1.74 (3H, s, H-28), 1.68 (6H, s, H-37, 38), 1.67 (1H, m, H-5 α), 1.65 (3H, s, H-23), 1.62 (3H, s, H-22), 1.58 (3H, s, H-27), 1.34 (3H, s, H-32), 1.22 (3H, s, H-33), 1.12 (3H, s, H-17)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 206.8 (C-1), 193.6 (C-10), 188.2 (C-9), 175.8 (C-7), 136.9 (C-11), 134.9 (C-36), 133.8 (C-26), 132.2 (C-14), 131.4 (C-21), 128.3 (C-12), 128.3 (C-16), 128.2 (C-13), 128.1 (C-15), 124.5 (C-20), 122.6 (C-25), 120.5 (C-35), 118.5 (C-8), 93.3 (C-30), 79.8 (C-2), 71.7 (C-31), 55.5 (C-6), 49.9 (C-3), 42.8 (C-4), 39.4 (C-5), 36.7 (C-18), 29.2 (C-34), 27.7 (C-24), 27.3 (C-29), 26.2 (C-23), 26.1 (C-28), 26.1 (C-33), 25.9 (C-38), 25.2 (C-19), 23.2 (C-32), 18.3 (C-22), 18.2 (C-27), 17.9 (C-37), 14.2 (C-17)。化合物 **2** 的 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱中共显示了 38 个碳信号, 通过特征碳信号 δ 206.8 (C-1), 193.6 (C-10), 188.2 (C-9), 175.8 (C-7), 118.5 (C-8), 79.8 (C-2), 55.5 (C-6), 49.9 (C-3), 42.8 (C-4), 39.4 (C-5), 可以推断该化合物是[3.3.1]型多环多异戊烯基间苯三酚衍生物。结合 ^1H -NMR 分析显示化合物 **2** 具有一个苯甲酰基, 三个异戊烯基和一个四氢呋喃环片段, 其波谱数据与 Chen 等 (2010) 的报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 uralodin B。

化合物 **3** 黄色油状。ESI-MS: m/z 445 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_6$; ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.94 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-18), 3.42 (1H, dt, $J = 6.8$ Hz, H-24), 2.74 (1H, dd, $J = 14.0, 8.9$ Hz, H-17a), 2.62 (1H, dd, $J = 14.0, 6.6$ Hz, H-17b), 2.22 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-14b), 1.90 (1H, m, H-7a), 1.88 (1H, m, H-7b), 1.77 (1H, m, H-12), 1.76 (1H, m, H-11a), 1.75 (2H, m, H-10), 1.62 (3H, s, H-21), 1.58 (3H, s, H-20), 1.55 (1H, m, H-8), 1.41 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-14a), 1.38 (1H, m, H-11b), 1.36 (3H, s, H-16), 1.33 (3H, s, H-22), 1.25 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-26), 1.16 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-25), 1.04 (3H, s, H-15)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 206.9 (C-5), 205.3 (C-23), 200.5 (C-1), 197.7 (C-3), 136.2 (C-19), 118.9 (C-18), 110.6 (C-2), 79.3 (C-9), 73.3 (C-13), 65.4 (C-4), 57.4 (C-6), 52.1 (C-12), 48.9 (C-14), 48.2 (C-8), 40.0 (C-10), 35.4 (C-17), 34.1 (C-24), 26.9 (C-16), 26.7 (C-7), 26.2 (C-22), 26.0 (C-21), 21.8 (C-11), 21.2 (C-15), 20.9 (C-26), 18.3 (C-25), 18.0 (C-20)。化合物 **3** 的 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱中共显示了 26 个碳信号, 通过特征碳信号 δ 206.9 (C-5), 200.5 (C-1), 197.7 (C-3), 110.6 (C-2), 79.3 (C-9), 73.3 (C-13), 65.4 (C-4), 57.4 (C-6), 52.1 (C-12), 48.9 (C-14), 48.2 (C-8), 40.0 (C-10), 26.7 (C-7), 21.8 (C-11), 可以推断该化合物是螺环型多环多异戊烯基间苯三酚衍生物。结合 ^1H -NMR 分析显示化合物 **3** 具有一个异丙酰基和一个异戊烯基片段, 其波谱数据与 Abe 等 (2012) 的报道基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 chipericumin C。

化合物 **4** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 259 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_5$; ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.59 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-8), 7.46 (1H, d, $J = 7.8$, H-3), 7.34 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-4),

7.33 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-6), 7.25 (1H, t, $J = 7.5, 1.7$ Hz, H-7), 3.90 (3H, s, 1-OCH₃). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 178.6 (C-9), 151.8 (C-4a), 148.0 (C-2), 147.5 (C-5), 146.5 (C-1), 145.3 (C-4b), 125.3 (C-3), 124.6 (C-7), 123.9 (C-8a), 120.7 (C-6), 117.1 (C-8b), 117.0 (C-8), 115.2 (C-4), 62.1 (1-OCH₃). 其波谱数据与程旺元等(2008)的报道基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为 2,5-二羟基-1-甲氧基氧杂蒽酮。

化合物 **5** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 229 [M+H]⁺, C₁₃H₈O₄; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.43 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-3), 7.32 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-8), 7.25 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5), 7.17 (1H, dd, $J = 9.0, 3.0$ Hz, H-6), 6.76 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-4), 6.44 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2). ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 182.2 (C-9), 161.9 (C-1), 156.5 (C-4a), 152.3 (C-7), 151.0 (C-4b), 136.9 (C-3), 124.9 (C-6), 121.2 (C-8a), 119.6 (C-5), 110.2 (C-2), 108.8 (C-8), 108.6 (C-8b), 107.2 (C-4)。其波谱数据与 Wong 等(2018)的报道基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为 1,7-二羟基氧杂蒽酮。

化合物 **6** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 259 [M+H]⁺, C₁₄H₁₀O₅; ¹H-NMR (600MHz, CD₃OD) δ : 7.52 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-8), 7.49 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-6), 7.36 (1H, $J = 8.9$ Hz, H-2), 7.32 (1H, dd, $J = 9.1, 3.1$ Hz, H-5), 6.66 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3), 3.93 (3H, s, 4-OCH₃). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 183.5 (C-9), 155.7 (C-7), 155.5 (C-1), 151.4 (C-4b), 147.4 (C-4a), 141.6 (C-4), 126.4 (C-6), 122.2 (C-8a), 121.4 (C-3), 120.5 (C-5), 109.9 (C-8b), 109.1 (C-8), 109.0 (C-2), 57.8 (4-OCH₃)。其波谱数据与 Dao 等(2012)的报道基本一致, 故鉴定化合物 **6** 为 1,7-二羟基-4-甲氧基氧杂蒽酮。

化合物 **7** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 449 [M+H]⁺, C₂₁H₂₀O₁₁; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.30 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 7.25 (1H, dd, $J = 8.6, 1.9$ Hz, H-6'), 6.89 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 5.25 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-1"), 3.96 (1H, m, H-2"), 3.49 (1H, m, H-3"), 3.29 (1H, m, H-5"), 3.12 (1H, m, H-4"), 0.79 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, 5"-CH₃)。 ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 180.0 (C-4), 166.0 (C-7), 163.1 (C-5), 159.4 (C-9), 158.8 (C-2), 149.9 (C-4'), 146.4 (C-3'), 136.4 (C-3), 123.1 (C-6'), 122.8 (C-1'), 117.0 (C-2'), 116.0 (C-5'), 105.8 (C-10), 103.1 (C-1"), 99.5 (C-6), 94.6 (C-8), 73.3 (C-4"), 72.1 (C-2"), 72.1 (C-3"), 71.9 (C-5"), 17.7 (C-6")。其波谱数据与 Zhong 等(1997)的报道基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为槲皮苷。

化合物 **8** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 417 [M+H]⁺, C₂₁H₂₀O₁₀; ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.07 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.13 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.69 (1H, s, H-3), 6.86 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.46 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.08 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1"). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_C 182.0 (C-4), 163.8 (C-2), 163.0 (C-7), 162.4 (C-5), 161.4 (C-4'), 156.9 (C-9), 128.4 (C-2', 6'), 120.7 (C-1'), 114.6 (C-3', 5'), 105.4 (C-10), 105.4 (C-1"), 103.8 (C-3), 99.9 (C-2"), 99.5 (C-6), 94.9 (C-8), 77.2 (C-4"), 76.4 (C-6"), 73.1 (C-3"), 69.5 (C-5")。其波谱数据与庄鹏宇等(2009)的报道基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **9** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 473 [M-H]⁻, C₂₃H₂₂O₁₁; ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.85 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.72 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 6.61 (1H, s, H-3), 6.45 (1H, br.s, H-6), 5.04 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1"), 4.47 (1H, dd, $J = 11.3, 2.4$ Hz, H-6b"), 4.23 (1H, dd, $J = 11.3, 4.6$ Hz, H-6a"), 3.77 (1H, s, H-5"), 3.63 (1H, m, H-2"), 3.56 (1H, m, H-3"), 3.36 (1H, dd, $J = 9.2, 9.2$ Hz, H-4"), 2.09 (3H, s, CO-CH₃-6)。 ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 182.3 (C-4), 171.6 (C-1"), 165.4 (C-7), 163.2 (C-2), 161.6 (C-5), 161.5 (C-4'), 157.5 (C-9), 128.2 (C-2', 6'), 121.6 (C-1'), 115.7 (C-3', 5'), 105.7 (C-10), 102.8 (C-3), 100.1 (C-1"), 99.7 (C-2), 94.8 (C-8), 76.3 (C-3"), 74.2 (C-5"), 73.3 (C-2"), 70.2 (C-7"), 63.4 (C-6"), 19.4 (C-2")。其波谱数据与程淼等(2014)的报道基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为芹菜素-7-O- β -D-(6"-O-乙酰

基)-葡萄糖苷。

化合物 **10** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 287 $[M+H]^+$, $C_{15}H_{10}O_6$; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.38 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.37 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.53 (1H, s, H-3), 6.42 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 183.7 (C-4), 166.4 (C-7), 166.1 (C-2), 163.2 (C-5), 159.3 (C-9), 151.0 (C-4'), 147.1 (C-3'), 123.7 (C-1'), 120.3 (C-6'), 116.8 (C-5'), 114.1 (C-2'), 105.3 (C-10), 103.9 (C-3), 100.1 (C-6), 95.0 (C-8)。其波谱数据与和蕾等 (2008) 的报道基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为木犀草素。

化合物 **11** 黄色无定形粉末。ESI-MS: m/z 303 $[M+H]^+$, $C_{15}H_{10}O_7$; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.73 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_c 177.3 (C-4), 165.6 (C-7), 162.5 (C-9), 158.2 (C-5), 148.8 (C-4'), 148.0 (C-2), 146.2 (C-3'), 137.3 (C-3), 124.1 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.2 (C-5'), 115.9 (C-2'), 104.5 (C-10), 99.2 (C-6), 94.4 (C-8)。其波谱数据与王晓阳等 (2020) 的报道基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为槲皮素。

化合物 **12** 白色无定形粉末。ESI-MS: m/z 457 $[M+H]^+$, $C_{30}H_{48}O_3$; 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.69 (1H, s, H-29a), 4.57 (1H, s, H-29b), 3.33 (1H, m, H-3), 1.68 (3H, s, H-23), 0.99 (3H, s, H-24), 0.95 (3H, s, H-25), 0.93 (3H, s, H-26), 0.84 (3H, s, H-27), 0.74 (3H, s, H-30). ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 180.1 (C-28), 152.0 (C-20), 110.2 (C-29), 79.7 (C-3), 57.5 (C-17), 56.9 (C-5), 52.0 (C-9), 50.4 (C-18), 48.1 (C-19), 43.6 (C-14), 41.9 (C-8), 40.1 (C-1), 39.7 (C-4), 38.3 (C-13), 38.1 (C-10), 37.9 (C-22), 35.6 (C-7), 33.3 (C-16), 31.7 (C-15), 30.8 (C-21), 28.6 (C-23), 28.0 (C-2), 26.9 (C-12), 22.1 (C-11), 19.5 (C-6), 19.4 (C-30), 16.7 (C-26), 16.6 (C-25), 16.1 (C-24), 15.1 (C-27)。其波谱数据与王军民等 (2021) 的报道基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为白桦脂酸。

化合物 **13** 白色无定形粉末。ESI-MS: m/z 471 $[M+H]^+$, $C_{31}H_{50}O_3$; 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.73 (1H, s, H-29a), 4.60 (1H, s, H-29b), 3.61 (3H, s, CO_2Me), 3.15 (1H, m, H-3), 2.88 (1H, m, H-19), 1.66 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-25), 0.93 (3H, s, H-26), 0.81 (3H, s, H-27), 0.75 (3H, s, H-23). ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 180.8 (C-28), 150.6 (C-20), 109.9 (C-29), 79.2 (C-3), 56.4 (C-17), 55.5 (C-5), 51.1 ($-CO_2Me$), 50.6 (C-9), 49.4 (C-19), 47.0 (C-18), 42.3 (C-14), 40.8 (C-8), 39.0 (C-4), 38.8 (C-1), 38.5 (C-13), 37.3 (C-22), 37.2 (C-10), 34.4 (C-7), 32.3 (C-16), 30.7 (C-15), 29.8 (C-21), 28.1 (C-23), 27.5 (C-2), 25.6 (C-12), 21.0 (C-11), 19.5 (C-30), 18.4 (C-6), 16.3 (C-25), 16.2 (C-26), 15.5 (C-24), 14.8 (C-27)。其波谱数据 Kojim 等 (1987) 的报道基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为白桦脂酸甲酯。

化合物 **14** 白色无定形粉末。ESI-MS: m/z 453 $[M-H]^-$, $C_{30}H_{46}O_3$; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 4.75 (1H, s, H-29a), 4.59 (1H, s, H-29b), 2.99 (1H, m, H-19), 2.50 (1H, m, H-2 β), 2.39 (1H, m, H-2 α), 2.30 (1H, m, H-16 β), 2.20 (1H, m, H-13), 2.00 (2H, m, H-15 β , 22 β), 1.90 (1H, m, H-1 β), 1.69 (1H, m, H-12 β), 1.65 (3H, s, H-30), 1.60 (1H, m, H-18), 1.55 (1H, m, H-21 β), 1.50 (2H, m, H-6), 1.45 (1H, m, H-22 α), 1.43 (4H, m, H-7, 11 β , 16 α), 1.40 (1H, m, H-15 α), 1.39 (2H, m, H-1 α , 9), 1.36 (1H, m, H-5), 1.36 (1H, m, H-11 α), 1.21 (1H, m, H-21 α), 1.07 (3H, s, H-23), 1.04 (1H, m, H-12 α), 0.99 (3H, s, H-24), 0.97 (3H, s, H-27), 0.95 (3H, s, H-26), 0.91 (3H, s, H-25). ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 218.7 (C-3), 182.3 (C-28), 150.4 (C-20), 110.0 (C-29), 56.4 (C-17), 54.9 (C-5), 50.0 (C-9), 49.1 (C-18), 47.6 (C-4), 46.9 (C-19), 42.5 (C-14), 40.8 (C-8), 40.0 (C-1), 39.1 (C-13), 37.5 (C-22), 36.9 (C-10), 34.2 (C-2), 34.0 (C-7), 32.1 (C-16), 30.5 (C-15), 30.0 (C-21), 26.8 (C-23), 25.7 (C-12), 21.6 (C-11), 21.2 (C-24), 20.0 (C-6), 19.6 (C-30), 16.4 (C-25), 16.0 (C-26), 14.8 (C-27)。其波谱数据与Barthel等 (2008) 的报道基本一致, 故鉴定化合

物14为白桦脂酮酸。

化合物15 白色无定形粉末。EI-MS: m/z 397 $[M+H]^+$, $C_{29}H_{50}O$; TLC多个体系展开与标准品 R_f 值均一致, 故鉴定化合物15为 β -谷甾醇。

2.2 细胞毒活性结果

采用 MTT 法测试从纤枝金丝桃乙醇提取物中分离到的化合物 1-14 对 2 种乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-231 的细胞毒活性, 活性测试结果显示, 测试的 14 个化合物中, 仅有化合物 3、6、13 对 MCF-7 和 MDA-MB-231 两个细胞株显示一定的抗癌活性, 它们对 MCF-7 细胞株的 IC_{50} 值分别为 123.5 ± 5.8 、 52.7 ± 2.7 、 $99.4 \pm 5.3 \mu g \cdot mL^{-1}$, 对 MDA-MB-231 细胞株的 IC_{50} 值分别为 112.8 ± 6.2 、 48.6 ± 1.9 、 $105.1 \pm 7.0 \mu g \cdot mL^{-1}$, 其他化合物在测试浓度达到 $200 \mu g \cdot mL^{-1}$ 仍然不显示活性。

3 讨论与结论

金丝桃属植物中特征性成分天然多环多异戊烯基间苯三酚类成分 (PPAPs) 具有复杂独特的结构, 其结构类型分为[3.3.1]型、[3.2.1]型、[5.3.1]型、金刚烷型、类金刚烷型、螺环型及其他类型。本论文从云南产植物纤枝金丝桃中分离到15个单体化合物, 结构类型包括有多环多异戊烯基间苯三酚类、黄酮类、三萜类、甾体类, 其中3个为多环多异戊烯基间苯三酚衍生物, 结构类型为[3.3.1]型和螺环型。该论文较好地充实了金丝桃属植物和天然产物的研究内容, 拓宽了对纤枝金丝桃植物的物质基础的认识。

PPAPs不仅具有复杂独特的结构, 且具有抗肿瘤、抗抑郁、抗菌、抗炎等广泛的生物活性。我们对首次分离化合物进行了体外抗乳腺癌活性测试, 结果显示没有发现显著抑制两种乳腺癌细胞株MCF-7和MDA-MB-231的活性化合物。PPAPs的另一个主要作用是抗抑郁活性, 研究表明贯叶金丝桃素 (hyperforin) 是多种神经递质的非竞争性重吸收抑制剂, 其是通过竞争转运蛋白的结合位点选择性地抑制神经递质的重吸收而产生抗抑郁作用 (Müller et al., 1998)。基于此, 课题组将进一步对所得PPAPs类化合物进行抗抑郁活性筛选研究, 期望获得具有抗抑郁作用化合物。综上所述, 本研究为深入探讨纤枝金丝桃的化学成分和药理作用奠定了基础, 也为未来合理开发利用该植物提供了一定的科学依据。

参考文献:

- ABE S, TANAKA N, KOBAYASHI J, 2012. Prenylated acylphloroglucinols, chipericumins A-D, from *Hypericum chinense*[J]. J Nat Prod, 75(3): 484-488.
- BARTHEL A, STARK S, CSUK R, 2008. Oxidative transformations of betulinol[J]. Tetrahedron, 64: 9225-9229.
- CHINESE PHARMACOPOEIA COMMISSION, 2020. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Volume 1) [M]. Beijing: China Medical Science Press: 242. [中国药典委员会, 2020. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社: 242.]
- CHEN XQ, LI Y, CHENG X, et al., 2010. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols and chromone O-glucosides from *Hypericum henryi* subsp. *uraloides*[J]. Chem Biodivers, 7(1): 196-204.
- CHENG WY, ZHONG FF, ZHAO YH, et al., 2008. Study on the antioxidant constituents from the barks of *Garcinia xanthochymus*[J]. Nat Prod Res Dev, 20: 836-838, 895. [程旺元, 钟芳芳, 赵应红, 等, 2008. 人面果抗氧化活性成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 20: 836-838, 895.]
- CHENG M, MENG LJ, ZHOU XD, et al., 2014. Chemical constituents of flavonoids and their glycosides in *Melastoma dodecandrum*[J]. Chin J Chin Mat Med, 39(17): 3301-3305. [程淼, 孟

- 令杰, 周兴栋, 等, 2014. 地稔中黄酮及其苷类化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 39(17): 3301-3305.]
- DAO TT, DANG TT, NGUYEN PH, et al., 2012. Xanthones from *Polygala karensium* inhibit neuraminidases from influenza A viruses[J]. Bioorg Med Chem Lett, 22(11): 3688-3692.
- HE L, SHI QR, LIU RH, et al., 2008. Anti-inflammatory constituents from the stems of *Daphne genkwa*[J]. Acad J Second Mili Med Univ, 29(10): 1221-1226. [和蕾, 史琪荣, 柳润辉, 等, 2008. 芫花条中抗炎活性成分[J]. 第二军医大学学报, 29(10): 1221-1226.]
- KOJIMA H, TOMINAGA H, SATO S, et al., 1987. Pentacyclic triterpenoids from *Prunella vulgaris*[J]. Phytochemistry, 26(4): 1107-1111.
- LI XW, NORMAN KBR, 2007. Flora of China[M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 13: 2-6, 14-15.
- MÜLLER WE, SINGER A, WONNEMANN M, et al., 1998. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of hypericum extract[J]. Pharmacopsychiatry, 31(1): 16-21.
- WONG KW, EE GCL, ISMAIL IS, et al., 2018. Xanthones from stem bark of *Garcinia rostrata* [J]. Chem Nat Comp, 54(6): 1160-1163.
- WANG XY, 2020. Chemical constituents from *Lobelia chinensis*[J]. Chin Tradit Pat Med, 42(12): 3208-3210. [王晓阳, 2020. 半边莲化学成分的研究[J]. 中成药, 42(12): 3208-3210.]
- WANG JM, LIU SY, YANG Y, et al., 2021. Chemical constituents from *Poria cocos*[J]. Chin Tradit Pat Med, 43(10): 2728-2732. [王军民, 刘思远, 杨莹, 等, 2021. 茯神化学成分的研究[J]. 中成药, 43(10): 2728-2732.]
- XU C, HUANG HQ, LYU YB, et al., 2020. Study on inhibiting hepatocarcinoma cells proliferation of petroleum ether extract from *Inula racemosa* by accelerated solvent extraction *in vitro*[J]. J Huazhong Norm Univ (Nat Sci Ed), 54(5): 833-840. [徐婵, 黄慧琪, 吕奕兵, 等, 2020. 藏木香石油醚快速溶剂萃取物体外抑制肝癌细胞增殖活性研究[J]. 华中师范大学学报 (自然科学版), 54(5): 833-840.]
- YIN HJ, 2020. Research on the chemical constituents and bioactivities of the fruits of *Garcinia bracteata*[D]. Wuhan: South-Central Minzu University: 20-70. [殷慧君, 2020. 大苞藤黄果实的化学成分及生物活性研究[D]. 武汉: 中南民族大学: 20-70.]
- YANG XW, LI YP, SU J, et al., 2016. Hyperjapones A-E, terpenoid polymethylated acylphloroglucinols from *Hypericum japonicum*[J]. Org Lett, 18(8): 1876-1879.
- ZHOU ZB, ZHANG YM, LUO JG, et al., 2016. Cytotoxic polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol derivatives and xanthones from *Hypericum attenuatum*[J]. Phytochem Lett, 15: 215-219.
- ZHONG XN, QTSUKA H, IDE T, et al., 1997. Three flavonol glycosides from leaves of *Myrsine seguinii*[J]. Phytochemistry, 46(5): 943-946.
- ZHUANG PY, FU WW, TAN CH, et al., 2009. Study on the chemical constituents of *Heterostemma alatum* Wight[J]. Nat Prod Res Dev, 21: 963-965. [庄鹏宇, 付文卫, 谭昌恒, 等, 2009. 醉魂藤的化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 21: 963-965.]